РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2012 154 652** (13) **A**

(51) МПК
C07K 1/16 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: **2012154652/04, 13.04.2011**

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
18.05.2010 US 61/345,634

(43) Дата публикации заявки: **27.06.2014** Бюл. № **18**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **18.12.2012**

(86) Заявка PCT:
US 2011/032279 (13.04.2011)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2011/146179 (24.11.2011)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):
ЭББВИ ИНК. (US)

(72) Автор(ы):
ВАН Чэнь (US),
ХИКМАН Роберт К. (US),
ЛАНДЕЛЛ Эдвин О. (US),
ХЕДЖЕДУС Рой Д. (US)

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОЧИСТКИ БЕЛКА И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ УКАЗАННОГО УСТРОЙСТВА

(57) Формула изобретения

1. Устройство для очистки белка из образца, содержащего подлежащий очистке белок, которое включает:

a. улавливающую хроматографическую смолу;

b. фильтр глубокой очистки, расположенный по отношению к улавливающей хроматографической смоле так, что образец проходит через улавливающую хроматографическую смолу и фильтр глубокой очистки; и

c. хроматографическую смолу смешанного типа, расположенную по отношению к фильтру глубокой очистки так, что образец проходит через фильтр глубокой очистки и хроматографическую смолу смешанного типа.

2. Устройство по п.1, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы для аффинной хроматографии, смолы для ионообменной хроматографии и смолы для гидрофобной хроматографии.

3. Устройство по п.1, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы с белком A, смолы с белком G, смолы с белками A/G и смолы с белком L.

4. Устройство по п.1, в котором улавливающая хроматографическая смола и/или хроматографическая смола смешанного типа находится в хроматографической колонке.

5. Устройство по п.1, дополнительно включающее одно или более осветляющих

RU 2012154652 A

RU 2012154652 A

устройств, предназначенных для осветления белка, в которые образец поступает до пропускания через улавливающую хроматографическую смолу.

6. Устройство по п.5, в котором осветляющее устройство выбирают из одного или более устройств из группы, состоящей из центрифуги, микрофильтра, ультрафильтра и фильтра глубокой очистки.

7. Устройство по п.1, дополнительно включающее второй фильтр глубокой очистки, в который образец поступает после первого фильтра глубокой очистки и до пропускания образца через хроматографическую смолу смешанного типа.

8. Устройство по п.1, дополнительно включающее стерилизующий фильтр, в который образец поступает после фильтра глубокой очистки и до пропускания образца через хроматографическую смолу смешанного типа.

9. Устройство по п.1, в котором хроматографическая смола смешанного типа включает хроматографическую смолу, функционирующую в соответствии с одним или более хроматографическими механизмами, выбираемыми из группы, состоящей из анионного обмена, катионного обмена, гидрофобного взаимодействия, гидрофильного взаимодействия, образования водородных связей, pi-pi-связывания и сродства к металлу.

10. Устройство по п.1, в котором хроматографическая смола смешанного типа включает хроматографическую смолу, функционирующую в соответствии с комбинацией механизмов анионообменной и гидрофобной хроматографии.

11. Устройство для очистки белка из образца, содержащего подлежащий очистке белок, которое включает:

a. улавливающую хроматографическую смолу;

b. фильтр глубокой очистки, расположенный по отношению к улавливающей хроматографической смоле так, что образец проходит через улавливающую хроматографическую смолу и фильтр глубокой очистки; и

c. мембранный адсорбер, расположенный по отношению к фильтру глубокой очистки так, что образец проходит через фильтр глубокой очистки и мембранный адсорбер.

12. Устройство по п.11, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы с белком A, смолы с белком G, смолы с белками A/G и смолы с белком L.

13. Устройство по п.11, дополнительно включающее одно или более осветляющих устройств, предназначенных для осветления белка, в которые образец поступает до пропускания через улавливающую хроматографическую смолу.

14. Устройство по п.13, в котором осветляющее устройство выбирают из одного или более устройств в группе, состоящей из центрифуги, микрофильтра, ультрафильтра и фильтра глубокой очистки.

15. Устройство по п.11, дополнительно включающее второй фильтр глубокой очистки, в который образец поступает после первого фильтра глубокой очистки и до пропускания образца через мембранный адсорбер.

16. Устройство по п.11, дополнительно включающее стерилизующий фильтр, в который образец поступает после фильтра глубокой очистки и до пропускания образца через мембранный адсорбер.

17. Устройство по п.11, в котором мембранный адсорбер выбирают из группы, состоящей из мембранного ионообменника, мембраны, содержащей лиганд смешанного типа, и гидрофобной мембраны.

18. Устройство по п.11, дополнительно включающее фильтр, предшествующий разливу, который расположен по отношению к мембранному адсорберу так, что образец проходит через мембранный адсорбер и указанный фильтр.

19. Устройство по п.18, в котором фильтр, предшествующий разливу, выбирают из группы, состоящей из вирусного фильтра, нанофильтра, ультрафильтра и диафильтра.

RU 2012154652 A

RU 2012154652 A

20. Устройство для очистки белка из образца, содержащего подлежащий очистке белок, которое включает:

a. улавливающую хроматографическую смолу;

b. фильтр глубокой очистки, расположенный по отношению к улавливающей хроматографической смоле так, что образец проходит через улавливающую хроматографическую смолу и фильтр глубокой очистки; и

c. монолит, расположенный по отношению к фильтру глубокой очистки так, что образец проходит через фильтр глубокой очистки и монолит.

21. Способ очистки белка, который включает:

a. получение образца, содержащего белок;

b. пропускание образца через улавливающую хроматографическую смолу с получением первого элюата, включающего белок;

c. пропускание первого элюата, полученного после пропускания образца через улавливающую хроматографическую смолу, пропусканием через фильтр глубокой очистки с получением фильтрованного элюата, включающего белок; и

d. пропускание фильтрованного элюата, полученного после пропускания первого элюата через фильтр глубокой очистки, через хроматографическую смолу смешанного типа с получением второго элюата, включающего белок.

22. Способ по п.21, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы для аффинной хроматографии, смолы для ионообменной хроматографии и смолы для гидрофобной хроматографии.

23. Способ по п.21, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы с белком A, смолы с белком G, смолы с белками A/G и смолы с белком L.

24. Способ по п.21, в котором белок выбирают из группы, состоящей из фрагмента белка, антитела, моноклонального антитела, иммуноглобулина и гибридного белка.

25. Способ по п.21, в котором образец представляет собой культуру клеток.

26. Способ по п.21, в котором образец осветляют до пропускания через улавливающую хроматографическую смолу.

27. Способ по п.26, в котором образец осветляют способом осветления, выбираемым из группы, состоящей из центрифугирования, микрофильтрации, ультрафильтрации, глубокой фильтрации, стерилизующей фильтрации и обработки детергентом.

28. Способ по п.21, в котором первый элюат подвергают инактивации вирусов после пропускания через улавливающую хроматографическую смолу, но до пропускания через фильтр глубокой очистки.

29. Способ по п.28, в котором инактивацию вирусов выполняют способом, выбираемым из группы, состоящей из обработки кислотой, детергентом, химическими веществами, агентами, перекрестно сшивающими нуклеиновые кислоты, ультрафиолетовым светом, гамма-излучением и теплом.

30. Способ по п.28, в котором инактивация вирусов включает понижение pH первого элюата до pH от около 3 до около 4.

31. Способ по п.30, в котором первый элюат инкубируют в течение периода времени от около 30 до около 90 мин во время инактивации вирусов.

32. Способ по п.21, в котором фильтрованный элюат вторично пропускают через фильтр глубокой очистки.

33. Способ по п.32, в котором фильтрованный элюат дважды пропускают через один и тот же фильтр глубокой очистки.

34. Способ по п.32, в котором фильтрованный элюат пропускают через два отдельных фильтра глубокой очистки.

35. Способ по п.21, в котором хроматографическая смола смешанного типа включает

RU 2012154652 A

RU 2012154652 A

хроматографическую смолу, функционирующую в соответствии с одним или более хроматографическими методами, выбираемыми из группы, состоящей из анионного обмена, катионного обмена, гидрофобного взаимодействия, гидрофильного взаимодействия, образования водородных связей, pi-pi-связывания и сродства к металлу.

36. Способ по п.21, в котором хроматографическая смола смешанного типа включает хроматографическую смолу, функционирующую в соответствии с комбинацией методов анионообменной и гидрофобной хроматографии.

37. Способ по п.21, в котором второй элюат, полученный после пропускания через хроматографическую смолу смешанного типа, подвергают дальнейшей фильтрации.

38. Способ по п.37, в котором дальнейшую фильтрацию выполняют одним или более способами, выбираемыми из группы, состоящей из вирусной фильтрации, нанофильтрации, ультрафильтрации и диафильтрации.

39. Способ по п.21, в котором фильтрованный элюат пропускают через хроматографическую смолу смешанного типа в проточном режиме.

40. Способ по п.21, в котором фильтрованный элюат пропускают через хроматографическую смолу смешанного типа в режиме связывания элюата.

41. Способ очистки белка, который включает:

a. получение образца, содержащего белок;

b. пропускание образца через улавливающую хроматографическую смолу с получением первого элюата, включающего белок;

c. пропускание первого элюата, полученного после пропускания образца через улавливающую хроматографическую смолу, через фильтр глубокой очистки с получением фильтрованного элюата, включающего белок; и

d. пропускание фильтрованного элюата, полученного после пропускания первого элюата через фильтр глубокой очистки, через мембранный адсорбер с получением второго элюата, включающего белок.

42. Способ по п.41, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы для аффинной хроматографии, смолы для ионообменной хроматографии и смолы для гидрофобной хроматографии.

43. Способ по п.41, в котором улавливающую хроматографическую смолу выбирают из группы, состоящей из смолы с белком A, смолы с белком G, смолы с белками A/G и смолы с белком L.

44. Способ по п.41, в котором белок выбирают из группы, состоящей из фрагмента белка, антитела, моноклонального антитела, иммуноглобулина и гибридного белка.

45. Способ по п.41, в котором образец представляет собой культуру клеток.

46. Способ по п.41, в котором образец осветляют до пропускания через улавливающую хроматографическую смолу.

47. Способ по п.46, в котором образец осветляют способом осветления, выбираемым из группы, состоящей из центрифугирования, микрофильтрации, ультрафильтрации, глубокой фильтрации, стерилизующей фильтрации и обработки детергентом.

48. Способ по п.41, в котором первый элюат подвергают инактивации вирусов до пропускания через фильтр глубокой очистки.

49. Способ по п.48, в котором инактивацию вирусов выполняют способом, выбираемым из группы, состоящей из обработки кислотой, детергентом, химическими веществами, агентами, перекрестно сшивающими нуклеиновые кислоты, ультрафиолетовым светом, гамма-излучением и теплом.

50. Способ по п.48, в котором инактивация вирусов включает понижение pH первого элюата до pH от около 3 до около 4.

51. Способ по п.49, в котором первый элюат инкубируют в течение периода времени от около 30 до около 90 мин во время инактивации вирусов.

RU 2012154652 A

RU 2012154652 A

52. Способ по п.41, в котором фильтрованный элюат вторично пропускают через фильтр глубокой очистки.

53. Способ по п.41, в котором фильтрованный элюат дважды пропускают через один и тот же фильтр глубокой очистки.

54. Способ по п.41, в котором фильтрованный элюат пропускают через два отдельных фильтра глубокой очистки.

55. Способ по п.41, в котором мембранный адсорбер выбирают из группы, состоящей из мембранного ионообменника, мембраны, содержащей лиганд смешанного типа, и гидрофобной мембраны.

56. Способ по п.41, в котором второй элюат вторично пропускают через мембранный адсорбер.

57. Способ по п.41, в котором второй элюат, полученный после пропускания через мембранный адсорбер, подвергают дальнейшей фильтрации.

58. Способ по п.57, в котором дальнейшую фильтрацию выполняют одним или более способами, выбираемыми из группы, состоящей из вирусной фильтрации, нанофильтрации, ультрафильтрации и диафильтрации.

59. Способ по п.41, который включает:

a. пропускание первого элюата через фильтр глубокой очистки после пропускания образца через улавливающую хроматографическую смолу; и

b. пропускание фильтрованного элюата через мембранный адсорбер после пропускания первого элюата через фильтр глубокой очистки.

60. Способ очистки белка, который включает:

a. получение образца, содержащего белок;

b. пропускание образца через улавливающую хроматографическую смолу с получением первого элюата, включающего белок;

c. пропускание первого элюата, полученного после пропускания образца через улавливающую хроматографическую смолу, через фильтр глубокой очистки с получением фильтрованного элюата, включающего белок; и

d. пропускание фильтрованного элюата, полученного после пропускания первого элюата через фильтр глубокой очистки, через монолит с получением второго элюата, включающего белок.

RU 2012154652 A

RU 2012154652 A